

MITOHONDRIJSKA TRANSPLANTACIJA: NOVA MOŽNOST TERAPIJE

MITOCHONDRIAL TRANSPLANTATION: A NEW THERAPEUTIC APPROACH

AVTORICI / AUTHORS:

asist. Natalija Trunkelj, mag. farm.
prof. dr. Lucija Peterlin Mašič, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: lucija.peterlinmasic@ffa.uni-lj.si



1 UVOD

Mitochondriji so organeli v evkariontskih celicah, obdani z dvojno membrano (zunanja in notranja membrana) (slika 1). Po endosimbiotski teoriji so mitochondriji nastali iz predmitohondrijske proteobakterije. Filogenetske analize pogosto kažejo sorodnost z redom *Rickettsiales*, ki zajema znotrajcelične parazitske/endosimbiotske bakterije (1, 2). Mitochondriji imajo svojo mitohondrijsko DNA (mtDNA), ki je odgovorna za kodiranje mitohondrijskih podenot v procesu

POVZETEK

Mitohondrijska transplantacija je inovativen pristop, ki ga intenzivno proučujejo kot obetavno možnost zdravljenja mitohondrijskih bolezni. Postopek vključuje nadomeščanje nefunkcionalnih mitohondrijev z zdravimi, kar poveča proizvodnjo adenozin trifosfata in zmanjša nastajanje reaktivnih kisikovih zvrsti. V pričujočem prispevku predstavlja mitohondrijsko transplantacijo kot terapevtski pristop in izpostavlja njeno potencialno klinično uporabo pri zdravljenju številnih bolezni. Poudarek namenjava trenutnemu napredku na tem področju in izpostavlja ključne izzive, s katerimi se bo treba v prihodnje še soočiti, da bo terapija lahko uporabna v klinični praksi.

KLJUČNE BESEDE:

kardiovaskularne bolezni, mitochondriji, mitohondrijske bolezni, mitohondrijska disfunkcija, mitohondrijska transplantacija

ABSTRACT

Mitochondrial transplantation is an innovative approach currently being intensively investigated as a promising therapeutic option for mitochondrial diseases. This procedure involves replacing dysfunctional mitochondria with healthy ones, thereby increasing cellular production of adenosine triphosphate and reducing the generation of reactive oxygen species. In this paper, we present mitochondrial transplantation as a therapeutic strategy and highlight its potential clinical applications in the treatment of various diseases. We focus on recent advancements in the field and outline the key challenges that must still be addressed for this therapy to become applicable in clinical practice.

KEY WORDS:

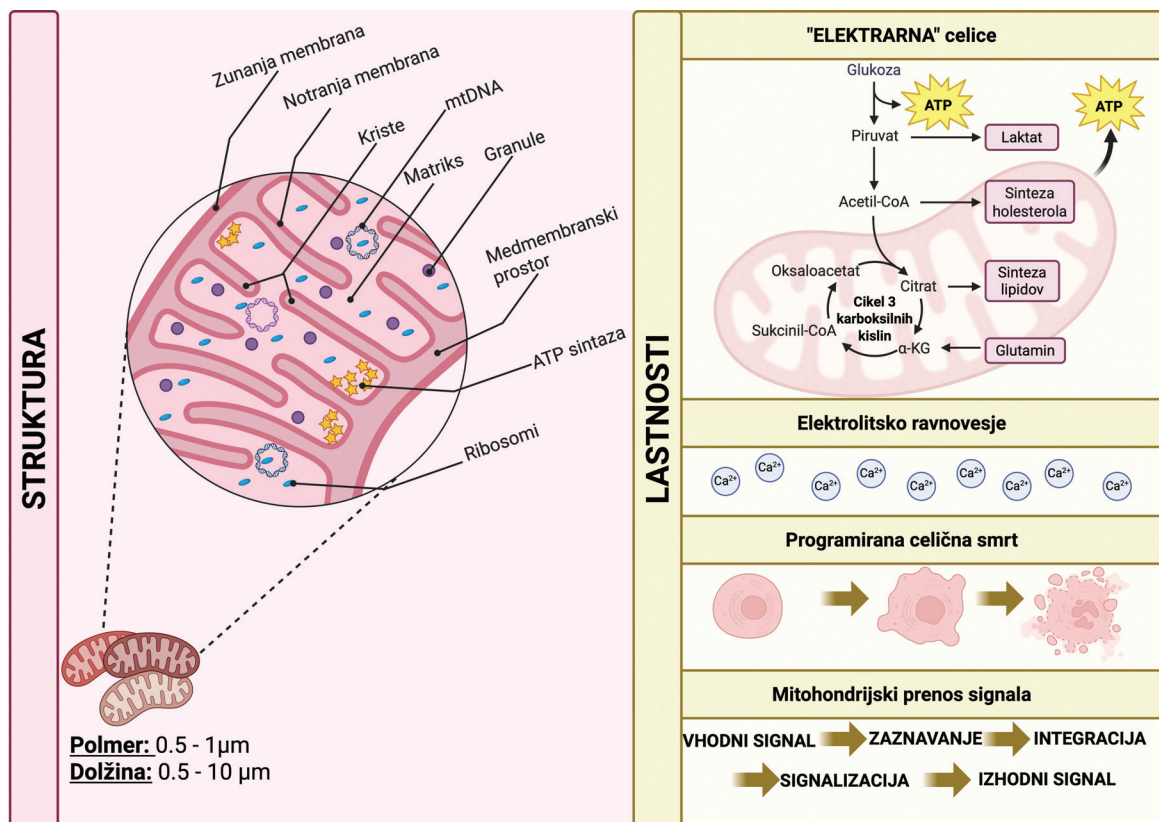
cardiovascular diseases, mitochondria, mitochondrial diseases, mitochondrial dysfunction, mitochondrial transplantation

oksidativne fosforilacije (3, 4). Mitochondriji skupaj z jedrom in drugimi organeli tvorijo integriran informacijski sistem, ki prek signalnih poti in povratnih zank usklajuje izražanje genov ter uravnava presnovne procese v celici (5). Poleg glavnih funkcij proizvodnje energije so mitochondriji vključeni v številne druge ključne celične procese, med drugim v

presnovo lipidov, uravnavanje znotrajcelične homeostaze kalcija, tvorbo signalnih molekul, ter s tem povezano uravnavanje celičnega signaliziranja, vnetnega odziva, diferenciacije, celične delitve, avtofagije in programirane celične smrti (slika 1) (6).

Funkcija mitohondrijev je ključna za številne procese, zato lahko njihova disfunkcija vodi v razvoj mitohondrijskih bolezni, ki se lahko pojavijo kadarkoli v življenju. Mitohondrijske bolezni so skupina presnovnih motenj, ki nastanejo zaradi okvare energetske funkcije celice (7). Pri primarnih mitohondrijskih boleznih so prizadeti geni, odgovorni za kodiranje aparata oksidativne fosforilacije (OXPHOS), ki je odgovoren za proizvodnjo adenozin trifosfata (ATP) (8). Pri sekundarnih mitohondrijskih boleznih pride do okvare genov, ki niso povezani s procesom OXPHOS. Sekundarne mitohondrijske bolezni so lahko prirojene ali pridobljene, medtem ko so primarne izključno prirojene. Razlikovanje, ali je mitohondrijska bolezen prirojena ali pridobljena, je ključnega pomena (9). Mitohondrijske bolezni se lahko izrazijo v katerem koli organu ali tkivu, najpogosteje pa prizadenejo organe z velikimi energijskimi potrebami, kot so možgani, skeletne mišice, srce in jetra (10). Klinična slika mitohondrijskih obolenj je zato zelo pestra. Med pogostejšimi in bolj značilnimi znaki so razvojni zaostanek, encefalopatije, hipotonija (miopatija) ter motnje vida (retinopatije) (11, 12). Prav ta raznolikost otežuje diagnostiko in razvoj učinkovitih terapij, zato so mitohondriji postali pomembna tarča raziskav v akademskih ustanovah in industriji (7, 13).

V pričujočem članku predstavlja najnovejši napredek in ključne dosežke na področju mitohondrijske transplantacije ter njen potencial za zdravljenje mitohondrijskih bolezni.



Slika 1. Struktura mitohondrijev in njihove ključne lastnosti (5). (α -KG – alfa-ketoglutarat; acetil-CoA – acetil koencim A; ATP – adenozin trifosfat; Ca^{2+} – kalcijevi ioni; mtDNA – mitohondrijska DNA; sukcinil-CoA –sukcinil koencim A). Ustvarjeno s programom Biorender: <https://BioRender.com/03c18wd>

Figure 1. Mitochondrial structure and properties (5). (α -KG – alpha-ketoglutarate; acetyl-CoA – acetyl coenzyme A; ATP – adenosine triphosphate; Ca^{2+} – calcium ions; succinyl -CoA – succinyl coenzyme A). Created in Biorender: <https://BioRender.com/03c18wd>

2 TRENUTNI KONCEPTI ZDRAVLJENJA MITOHONDRIJSKE DISFUNKCIJE

Mitohondrijske bolezni so heterogena skupina genetsko prenosljivih večsistemskih motenj, ki jih prepoznamo po primarni ali sekundarni okvari mitohondrijske funkcije in strukture (10, 14). Mitohondrijski proteini so kodirani tako v jedrni DNA (nDNA) kot tudi v mtDNA (7); večina patogenih genov je kodirana v nDNA, manjši delež pa v mtDNA (14). Posebnost mtDNA je heteroplazmija, tj. prisotnost različnih kopij mtDNA v različnih mitohondrijih, ki je prisotna tudi pri zdravih posameznikih, klinični znaki pa se običajno razvijejo šele, ko delež mutirane mtDNA preseže določen prag, ki se razlikuje med tkivi in posamezniki (7, 14). Zaradi izrazite genetske in klinične heterogenosti lahko mitohondrijske bolezni prizadenejo enega ali več organskih sistemov, kar vodi v zelo različne klinične slike. Najpogostejše so prizadeta tkiva z velikimi energijskimi potrebami. Starost ob pojavu simptomov in resnost bolezni se lahko izrazito razlikujeta glede na stopnjo heteroplazmije in druge individualne dejavnike (14). Za učinkovito zdravljenje mitohondrijskih obolenj ni treba zamenjati prav vseh mitohondrijev v celici, saj lahko že vnos zadostnega števila zdravih mitohondrijev obnovi normalno delovanje tkiva. Mitohondrijsko disfunkcijo lahko obravnavamo z različnimi terapevtskimi pristopi:

- a) spodbujanje mitohondrijske biogeneze,
- b) zmanjšanje števila nefunkcionalnih mitohondrijev in zamenjava z aktivnimi,
- c) nadomestitev okvarjenih komponent,
- č) tarčno zdravljenje posledic mitohondrijske disfunkcije,
- d) preusmeritev celičnega metabolizma, pri čemer celica zmanjša odvisnost od oksidativne fosforilacije in preusmeri energijsko presnovo na alternativne poti (15–17).

Do danes Ameriški urad za zdravila in prehrano (FDA) in drugi nacionalni regulatorni organi še niso odobrili zdravila za tarčno zdravljenje mitohondrijskih obolenj. Vse doslej raziskane možnosti so namenjene le lažšanju simptomov ali upočasnjevanju napredovanja bolezni. To vključuje tudi spremembo življenjskega sloga, potencialno uporabo prehranskih dopolnil, kot so koencim Q10, riboflavin, vitamina C in E ter številne druge načine (7, 13). Pomembno vlogo ima tudi individualno prilagojena telesna dejavnost, saj velja za enega redkih ukrepov, ki lahko dokazano izboljšajo mitohondrijsko funkcijo (18). Zaradi omejene učinkovitosti podpornih ukrepov se kot ključna nadaljnja usmeritev kaže razvoj bolj specifičnih

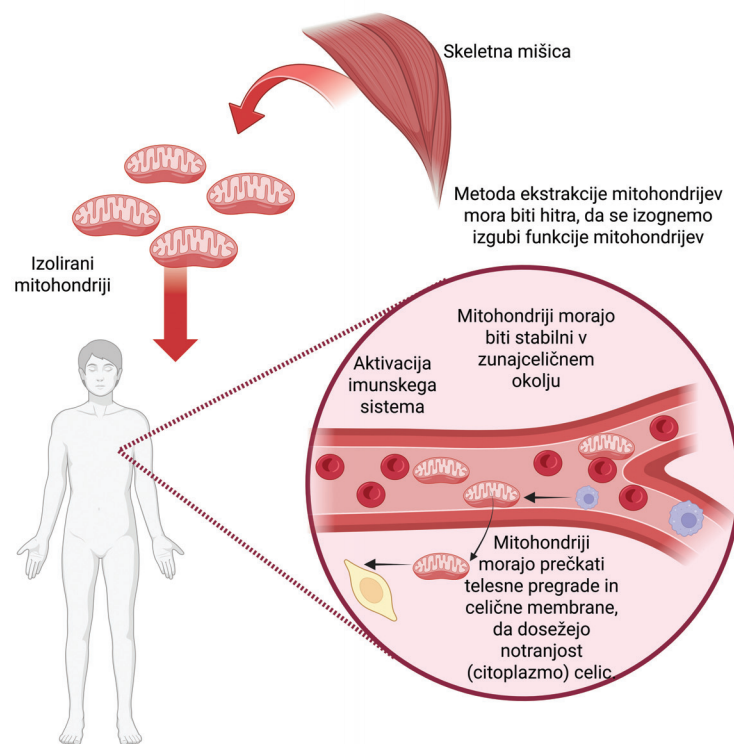
KLJUČNI POUDARKI

- Mitohondrijska transplantacija nadomešča nefunkcionalne mitohondrije z zdravimi ter izboljša produkcijo ATP in zmanjša oksidativni stres.
- Je obetavna, vendar še vedno eksperimentalna terapija, podprta s predkliničnimi dokazi, ki kažejo potencial za zdravljenje bolezni, povezanih z mitohondrijsko disfunkcijo.
- Poznamo več vrst mitohondrijskih transplantatov (avtologni, alogeni in ksenografski), pri katerih so ključni izzivi varnost, imunogenost in stabilnost.
- Ključne ovire tega pristopa so ohranjanje funkcionalnih mitohondrijev, njihova tarčna dostava ter potencialni imunski zapleti po aplikaciji.

terapevtskih pristopov, kot sta gensko zdravljenje in mitohondrijska transplantacija, ki sta za zdaj tehnično zelo zahtevni in še nista rutinsko uveljavljeni v klinični praksi (16, 19, 20).

3 MITOHONDRIJSKA TRANSPLANTACIJA

Zgodovina mitohondrijske transplantacije, imenovane tudi mitoterapija, sega v prejšnje stoletje. Znanstvenika Clark in Shay sta leta 1982 med prvimi pokazala, da lahko izolirani mitohondriji iz donorskih celic vstopijo v prejemne celice ter prenesejo lastnosti, kodirane v mtDNA, npr. odpornost na antibiotike, kar je potrdilo funkcionalen prenos mitohondrijev med celicami (21, 22). Danes se mitoterapija razvija kot obetaven, vendar še vedno pretežno eksperimentalni terapevtski pristop, čigar učinkovitost je bila že dokazana na predkliničnih živalskih modelih (16). Temelji na vnosu zdravih mitohondrijev, izoliranih iz zdravih celic ali tkiv, s čimer se poveča delež funkcionalnih mitohondrijev v tarčnih celicah in izboljša njihovo delovanje (23). Postopek vključuje zaporedje medsebojno odvisnih korakov: izolacijo, dostavo in internalizacijo eksogenih mitohondrijev v tarčne celice oziroma tkivo (slika 2) (7). Izolirani mitohondriji iz donorskega tkiva, npr. skeletne mišice, morajo ohraniti svojo integriteto in funkcionalnost skozi celoten postopek priprave. Po vnosu v organizem se mitohondriji soočijo s številnimi ovirami: lahko sprožijo imunski odziv, v zunajceličnem okolju lahko hitro izgubijo stabilnost, poleg tega pa morajo prečkati biološke pregrade, npr. vaskularni endotelij in ce-



Slika 2. Pregled strategij in ključnih izzivov pri izolaciji ter dostavi mitohondrijev za terapevtsko uporabo (24). Ustvarjeno s programom Biorender: <https://BioRender.com/0m5xd88>

Figure 2. Overview of strategies and key challenges in mitochondrial isolation and delivery for therapeutic use (24). Created with Biorender: <https://BioRender.com/0m5xd88>

lično membrano, kar je ključno za uspešno doseganje tarčnega mesta delovanja (24).

3.1 VRSTE MITOHONDRIJSKIH TRANSPLANTATOV

Mitohondrijska transplantacija je postopek, pri katerem izolirane mitohondrije pridobimo iz ustreznega celičnega vira in jih po rojstvu apliciramo pacientu z namenom doseganja terapevtskega učinka (3). V primerjavi z mitohondrijsko nadomestno terapijo, ki se izvaja v okviru postopkov oploditve z biomedicinsko pomočjo in je namenjena zmanjšanju prenosa patogenih mutacij mtDNA na potomce, je mitohondrijska transplantacija namenjena zdravljenju po rojstvu in ne posega v zarodno linijo (25). Mitohondrijska nadomestna terapija je trenutno klinično dovoljena le v omejenem številu držav; v Združenem kraljestvu se izvaja pod strogim nadzorom britanskega regulatornega organa za oploditev in embriologijo na podlagi zakonodaje iz leta 2015 (26). Pri mitohondrijski transplantaciji mitohondriji

niso neposredno mikroinjicirani v celice, temveč se po aplikaciji v tkivo ali po sistemske dostavi v krvni obtok internalizirajo v tarčne celice prek mehanizmov, ki so zelo podobni naravnemu prenosu mitohondrijev (27). Poznamo več različnih vrst mitohondrijskih transplantatov:

- **Avtologni mitohondrijski transplantati:** Mitohondrije izolirajo iz istega posameznika, ki jih pozneje tudi prejme. Takšen pristop mitohondrijske transplantacije predstavlja najmanjše tveganje, saj so vsi antigeni in mtDNA v transplantatu lastni prejemniku, zato je verjetnost sprožitve imunskega odziva manjša, varnost postopka pa večja (27).
- **Alogeni mitohondrijski transplantati:** Mitohondrije izolirajo iz drugega posameznika ali celične linije in jih nato neposredno vnesejo v prejemnika. Trenutno poteka klinična študija uporabe teh transplantatov pri terapiji refraktarnega polimiozitisa ali dermatomiozitisa (27, 28).
- **Ksenografski mitohondrijski transplantati:** Mitohondrije izolirajo iz organizma ene vrste (npr. človeka) in jih vnesejo v prejemnika druge vrste (npr. miši). Ta oblika mitohondrijske transplantacije je omejena na

eksperimentalne namene, saj lahko zaradi medvrstnih razlik sproži imunski odziv, usmerjen proti tujim antigenom (27).

3.2 KLINIČNE ŠTUDIJE MITOHONDRIJSKE TRANSPLANTACIJE

Mitohondrijsko transplantacijo raziskujejo kot možen terapevtski pristop za zdravljenje različnih bolezni, kot so nevrodegenerativne bolezni, možganska in srčna ishemija, debelost, diabetes ter nealkoholna bolezen jeter (16).

Pomemben mejnik na tem področju predstavlja delo McCullyja in sodelavcev iz bostonske pediatrične bolnišnice, ki so prvi poročali o klinični uporabi mitohondrijske transplantacije (29). Izvedli so avtologno mitohondrijsko transplantacijo pri pediatričnih bolnikih z ishemično-reperfuzijsko poškodbo miokarda, ki je pomemben dejavnik neugodnih izidov po epizodah ishemije, srčnih operacijah ali začasni prekinitvi prekrvavitve. Mitohondrije so izolirali iz preme trebušne mišice (lat. *musculus rectus abdominis*) bolnikov in jih neposredno vbrizgali v ishemično-reperfuzijsko poškodovano področje miokarda. Poročali so o izboljšanju prekatne funkcije v nekaj dneh po posegu pri vseh bolnikih. Neželenih učinkov niso zaznali, vključno z znaki sistemskega vnetnega ali imunskega odziva, spremembami ledvične funkcije ali zapleti, kot so aritmije oziroma intramiokardni hematomi, kar podpira kratkoročno varnost pristopa (7, 16, 30-32). Kljub obetavnim predkliničnim rezultatom in prvim kliničnim poročilom do danes še ni odobrenega zdravljenja na osnovi mitohondrijske transplantacije; izvajanje je trenutno omejeno na klinične študije (33). Nadaljnje raziskave mitohondrijske transplantacije so ključne za premagovanje obstoječih omejitev in njen prehod v širšo klinično rabo (34). Doslej izvedene študije predstavljajo trdne temelje za razvoj inovativnih terapij, ki bi lahko bistveno izboljšale izide zdravljenja številnih obolenj (31).

3.3 IZZIVI MITOHONDRIJSKE TRANSPLANTACIJE

Za širšo klinično uporabo mitohondrijske transplantacije je treba najprej nasloviti več pomembnih izzivov, povezanih z izolacijo, dostavo, stabilnostjo in varnostjo postopka (slika 3) (24).

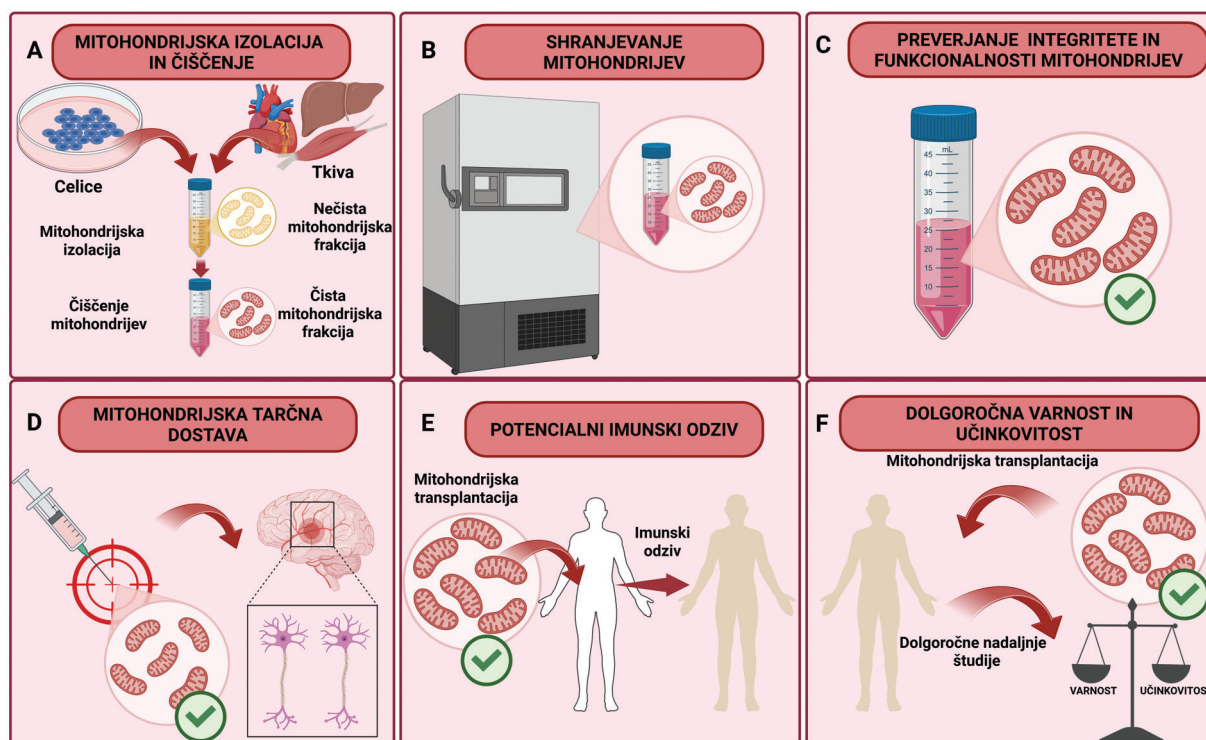
Izolacija mitohondrijev predstavlja stres za mitohondrije in spodbuja nastanek reaktivnih kisikovih vrst (slika 3A) (35). Za izolacijo mitohondrijev lahko uporabimo različne metode, na primer diferencialno centrifugiranje, mehansko homogenizacijo ali diferencialno filtracijo, ki pa so pogosto precej

nespecifične za mitohondrije. Poleg mitohondrijev lahko izoliramo tudi druge celične komponente, kar lahko poveča tveganje za neželene učinke (32, 36, 37).

Pri izvedbi mitohondrijske transplantacije je ključno ohranjanje funkcije in strukture mitohondrijev (slika 3C) (38). Mitohondriji zaradi strukturnih sprememb v zunanjih in notranjih membranah po izolaciji zelo hitro razpadejo (7, 39, 40). Velik problem nastane pri shranjevanju mitohondrijev (slika 3B). McCully in sodelavci (40) so poročali o tem, da mitohondriji ohranjajo svojo aktivnost na ledu le približno eno uro, daljše shranjevanje pa lahko močno vpliva na učinkovitost mitohondrijske transplantacije (22, 41). Zato je nujno preveriti viabilnost mitohondrijev, kar lahko izvedemo bodisi s fluorescenčnimi sondami, ki označijo vse mitohondrije neodvisno od membranskega potenciala, ali s sondami za membranski potencial, ki omogoča razlikovanje med funkcionalnimi in depolariziranimi mitohondriji. Funkcionalnost dodatno preverjamo z merjenjem porabe kisika, npr. s Clarkovimi elektrodami, ter določitvijo vsebnosti ATP npr. z luminiscenčnimi testi. Enako pomembna je čistost mitohondrijske frakcije, saj morajo izolirani mitohondriji vsebovati čim manj citoplazemskih in jedrnih nečistoč. Čistost mitohondrijskih frakcij lahko preverjamo s prenosom po Westernu z uporabo označevalcev za posamezne organele (7, 31, 42). Slabosti teh metod sta metodološka kompleksnost in časovna potratnost, zato ostaja razvoj hitrih, zanesljivih in kvantitativnih metod za analizo mitohondrijske integritete in funkcionalnosti pomembna usmeritev nadaljnjih raziskav (31).

Velik izziv ostaja tarčna dostava funkcionalnih mitohondrijev v obolelo tkivo, zlasti v centralni živčni sistem, kjer morajo mitohondriji prečkati krvno-možgansko pregrado (slika 3D) (31). Dokazano je, da le majhen delež mitohondrijev doseže celice, prenos pa ni specifičen za tarčne celice. K temu lahko prispeva tudi površinski naboj izoliranih mitohondrijev, ki zmanjšuje interakcije s celično membrano in privzem v celico (24). Potrebe po mitohondrijih so v različnih regijah živčnega sistema različne, zato je za učinkovito dostavo in privzem v izbrana tkiva razvoj tkivno specifičnih dostavnih sistemov ključnega pomena (43). Prenos izoliranih mitohondrijev je poleg nespecifične dostave omejen tudi po internalizaciji. Večina internaliziranih mitohondrijev je podvržena endolizosomski poti. Le manjši delež (manj kot 10 %) uspe uiti endosomom in doseči citosol, kjer se lahko vključi v mitohondrijsko mrežo prejemne celice (24, 44).

Študije poročajo o različnih odzivih organizma na vnos alogeničnih mitohondrijev. Nekateri znanstveniki so dokazali, da se alogena mitohondrijska transplantacija dobro prenaša



Slika 3. Glavni izzivi mitohondrijske transplatacije za klinično uporabo (31). Ustvarjeno s programom Biorender

(<https://BioRender.com/03c18wd>).

Figure 3. Key challenges in mitochondrial transplantation for clinical application (31). Created with Biorender (<https://BioRender.com/03c18wd>).

in ne sproži avtoimunskega odziva (45). V živalskih modelih po enkratni ali ponavljajoči aplikaciji niso opazili značilnih povišanj serumskih citokinov ali imunoglobulinov (46, 47). Nasprotno pa drugi poročajo, da lahko zunajcelični mitohondriji aktivirajo prirojeni imunski sistem, na primer prek aktivacije nevtrofilcev (48). Takšna nasprotujoča poročila na tem področju odpirajo vprašanja o varnosti mitohondrijske transplatacije, zlasti pri njihovi sistemski dostavi v tarčne organe (31).

Dodatno tveganje predstavlja vnos tuje mtDNA v prejemne celice. Interakcija med tujo mtDNA in jedrnim genomom celice lahko vodi do mitohondrijske disfunkcije (49). Vsak poseg, ki vključuje manipulacijo ali vnos tujega genskega materiala, zahteva strogo upoštevanje etičnih smernic in temeljito presojo v okviru ustreznih etičnih komisij. Poleg tega lahko uporaba alogeničnih mitohondrijev poveča tveganje za vnetni odziv in oksidativni stres, kar dodatno omejuje varno klinično uporabo tega pristopa (50, 51). Posledično sta dolgoročna učinkovitost in varnost mitohondrijske transplatacije še vedno neznani (slika 3E). V prihodnje bodo potrebne podrobne raziskave vključevanja mitohondrijev v

obstoječe mitohondrijsko omrežje prejemnih celic ter ohranjanja njihove funkcije. Pred širšo uporabo v klinični praksi bo treba mitohondrijsko transplatacijo sistematično optimizirati in standardizirati glede na metodo, čas intervencije, pogostost in odmere ter z dolgoročnimi spremljevalnimi študijami potrditi njeno varnost in učinkovitost (31).

4 SKLEP

Mitohondrijska transplatacija je v zadnjih letih pritegnila veliko raziskovalnega zanimanja. Ker za mitohondrijske bolezni še vedno nimamo učinkovite terapije, so raziskave novih pristopov na tem področju ključne. V tem prispevku predstavlja mitoterapijo kot eno najsodobnejših in najobetavnejših potencialnih možnosti zdravljenja mitohondrijskih okvar. Čeprav so začetni dokazi o mitohondrijski transplataciji znani že dlje časa, se je zanimanje za

mitohondrijsko transplantacijo kot terapevtski pristop izraziteje okrepilo v začetku 21. stoletja. To je pomenilo prelomnico in spodbudilo znanstveno skupnost k intenzivnejšemu raziskovanju tehnik mitohondrijske transplantacije za laboratorijsko in klinično uporabo. Za uspešen prenos v klinično prakso bodo ključni trije vidiki: (1) ohranjanje mitohondrijske integritete in funkcije med izolacijo, pripravo in dostavo; (2) razumevanje in obvladovanje imunskega odziva; (3) presnovne in genetske interakcije med eksogenimi mitohondriji in mitohondrijsko mrežo prejemnih celic. Le z izpolnitvijo teh pogojev lahko mitohondrijsko transplantacijo učinkovito uvedemo v klinično prakso in premagamo številne izzive pri zdravljenju mitohondrijskih bolezni.

5 LITERATURA

1. Roger AJ, Muñoz-Gómez SA, Kamikawa R. The Origin and Diversification of Mitochondria. *Curr Biol*. 2017 Nov;27(21):R1177–92.
2. Wang Z, Wu M. An integrated phylogenomic approach toward pinpointing the origin of mitochondria. *Sci Rep*. 2015 Jan 22;5(1):7949.
3. McCully JD, Levitsky S, Del Nido PJ, Cowan DB. Mitochondrial transplantation for therapeutic use. *Clin Transl Med*. 2016 Dec;5(1):e16.
4. Taanman JW. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochim Biophys Acta BBA - Bioenerg*. 1999 Feb;1410(2):103–23.
5. Zhao R, Dong C, Liang Q, Gao J, Sun C, Gu Z, et al. Engineered Mitochondrial Transplantation as An Anti-Aging Therapy. *Aging Dis*. 2024;
6. Tait SWG, Green DR. Mitochondria and cell signalling. *J Cell Sci*. 2012 Feb 15;125(4):807–15.
7. Zhang T guang, Miao C yu. Mitochondrial transplantation as a promising therapy for mitochondrial diseases. *Acta Pharm Sin B*. 2023 Mar;13(3):1028–35.
8. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primer*. 2016 Oct 20;2(1):16080.
9. Schmiedel J, Jackson S, Schäfer J, Reichmann H. Mitochondrial Cytopathies. *J Neurol*. 2003 Mar 1;250(3):267–77.
10. Valenti D, Vacca R. Primary and Secondary Mitochondrial Diseases: Etiologies and Therapeutic Strategies. *J Clin Med*. 2022 Jul 20;11(14):4209.
11. Klopstock T, Priglinger C, Yilmaz A, Kornblum C, Distelmaier F, Prokisch H. Mitochondrial disorders. *Dtsch Arztebl Int*. 2021 Nov 5;
12. McCormick E, Place E, Falk MJ. Molecular Genetic Testing for Mitochondrial Disease: From One Generation to the Next. *Neurotherapeutics*. 2013 Apr;10(2):251–61.
13. Weissig V. Drug Development for the Therapy of Mitochondrial Diseases. *Trends Mol Med*. 2020 Jan;26(1):40–57.
14. Wen H, Deng H, Li B, Chen J, Zhu J, Zhang X, et al. Mitochondrial diseases: from molecular mechanisms to therapeutic advances. *Signal Transduct Target Ther*. 2025 Jan 10;10(1):9.
15. Russell OM, Gorman GS, Lightowlers RN, Turnbull DM. Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. *Cell*. 2020 Apr 2;181(1):168–88.
16. Kim JS, Lee S, Kim WK, Han BS. Mitochondrial transplantation: an overview of a promising therapeutic approach. *BMB Rep*. 2023 Sep 30;56(9):488–95.
17. Lightowlers RN, Chrzanowska-Lightowlers ZM, Russell OM. Mitochondrial transplantation—a possible therapeutic for mitochondrial dysfunction?: Mitochondrial transfer is a potential cure for many diseases but proof of efficacy and safety is still lacking. *EMBO Rep*. 2020 Sep 3;21(9):e50964.
18. San-Millán I. The Key Role of Mitochondrial Function in Health and Disease. *Antioxidants*. 2023 Mar 23;12(4):782.
19. Jiao Q, Xiang L, Chen Y. Mitochondrial transplantation: A promising therapy for mitochondrial disorders. *Int J Pharm*. 2024 Jun;658:124194.
20. Rahman J, Rahman S. Mitochondrial medicine in the omics era. *The Lancet*. 2018 Jun;391(10139):2560–74.
21. Clark MA, Shay JW. Mitochondrial transformation of mammalian cells. *Nature*. 1982 Feb;295(5850):605–7.
22. D'Amato M, Morra F, Di Meo I, Tiranti V. Mitochondrial Transplantation in Mitochondrial Medicine: Current Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 19;24(3):1969.
23. Amatyia E, Blagg BSJ. Recent advances toward the development of Hsp90 C-terminal inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2023 Jan;80:129111.
24. Kubat GB, Picone P, Tuncay E, Aryan L, Girgenti A, Palumbo L, et al. Biotechnological approaches and therapeutic potential of mitochondria transfer and transplantation. *Nat Commun*. 2025 Jul 1;16(1):5709.
25. Herbert M, Turnbull D. Progress in mitochondrial replacement therapies. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018 Feb;19(2):71–2.
26. Castro RJ. Mitochondrial replacement therapy: the UK and US regulatory landscapes. *J Law Biosci*. 2016 Dec 1;3(3):726–35.
27. Brestoff JR, Singh KK, Aquilano K, Becker LB, Berridge MV, Boilard E, et al. Recommendations for mitochondria transfer and transplantation nomenclature and characterization. *Nat Metab*. 2025 Jan 16;7(1):53–67.
28. Yu SH, Kim S, Kim Y, Lee SE, Park JH, Cho G, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived mitochondria (PN-101) attenuate LPS-induced inflammatory responses by inhibiting NFκB signaling pathway. *BMB Rep*. 2022 Mar 31;55(3):136–41.
29. McCully JD, Cowan DB, Pacak CA, Toumpoulis IK, Dayalan H, Levitsky S. Injection of isolated mitochondria during early reperfusion for cardioprotection. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2009 Jan;296(1):H94–105.
30. Emani SM, Piekarski BL, Harild D, Del Nido PJ, McCully JD. Autologous mitochondrial transplantation for dysfunction after ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017 Jul;154(1):286–9.
31. Miao X, Jiang P, Wang Z, Kong W, Feng L. Mitochondrial Transplantation: A Novel Therapeutic Approach for Treating Diseases. *MedComm*. 2025 Jun;6(6):e70253.
32. McCully JD, Del Nido PJ, Emani SM. Mitochondrial transplantation for organ rescue. *Mitochondrion*. 2022 May;64:27–33.
33. Tripathi K, Ben-Shachar D. Mitochondria in the Central Nervous System in Health and Disease: The Puzzle of the Therapeutic Potential of Mitochondrial Transplantation. *Cells*. 2024 Feb 27;13(5):410.

34. Yamada Y, Ito M, Arai M, Hibino M, Tsujioka T, Harashima H. Challenges in Promoting Mitochondrial Transplantation Therapy. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 2;21(17):6365.
35. Picard M, Taivassalo T, Ritchie D, Wright KJ, Thomas MM, Romestaing C, et al. Mitochondrial Structure and Function Are Disrupted by Standard Isolation Methods. Polymenis M, editor. *PLoS ONE*. 2011 Mar 28;6(3):e18317.
36. Hubbard WB, Harwood CL, Prajapati P, Springer JE, Saatman KE, Sullivan PG. Fractionated mitochondrial magnetic separation for isolation of synaptic mitochondria from brain tissue. *Sci Rep*. 2019 Jul 4;9(1):9656.
37. Huang Y, Jin X, Zhang Y, Li Y, Liu J, Li Y. Innovative methods for isolating highly purified mitochondria essential for biomedical studies. *Mitochondrial Commun*. 2024;2:90–9.
38. Acin-Perez R, Benincá C, Shabane B, Shirihaï OS, Stiles L. Utilization of Human Samples for Assessment of Mitochondrial Bioenergetics: Gold Standards, Limitations, and Future Perspectives. *Life*. 2021 Sep 10;11(9):949.
39. Bock FJ, Tait SWG. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020 Feb;21(2):85–100.
40. McCully JD, Cowan DB, Emani SM, Del Nido PJ. Mitochondrial transplantation: From animal models to clinical use in humans. *Mitochondrion*. 2017 May;34:127–34.
41. Greiff D, Myers M. Effect of Dimethyl Sulphoxide on the Cryo-tolerance of Mitochondria. *Nature*. 1961 Jun;190(4782):1202–4.
42. Chang JC, Chang HS, Wu YC, Cheng WL, Lin TT, Chang HJ, et al. Mitochondrial transplantation regulates antitumour activity, chemoresistance and mitochondrial dynamics in breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019 Dec;38(1):30.
43. Borchertding N, Jia W, Giwa R, Field RL, Moley JR, Kopecky BJ, et al. Dietary lipids inhibit mitochondria transfer to macrophages to divert adipocyte-derived mitochondria into the blood. *Cell Metab*. 2022 Oct;34(10):1499–1513.e8.
44. Al Amir Dache Z, Chevé M, Dancourt J, Lavieu G. Quantitative cellular characterization of extracellular mitochondria uptake and delivery. *Nat Commun*. 2025 Oct 10;16(1):9053.
45. Masuzawa A, Black KM, Pacak CA, Ericsson M, Barnett RJ, Drumm C, et al. Transplantation of autologously derived mitochondria protects the heart from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2013 Apr 1;304(7):H966–82.
46. Kaza AK, Wamala I, Friehs I, Kuebler JD, Rathod RH, Berra I, et al. Myocardial rescue with autologous mitochondrial transplantation in a porcine model of ischemia/reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017 Apr;153(4):934–43.
47. Ramirez-Barbieri G, Moskowitsova K, Shin B, Blitzer D, Orfany A, Guariento A, et al. Alloreactivity and allorecognition of syngeneic and allogeneic mitochondria. *Mitochondrion*. 2019 May;46:103–15.
48. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010 Mar;464(7285):104–7.
49. Reinhardt K, Dowling DK, Morrow EH. Mitochondrial Replacement, Evolution, and the Clinic. *Science*. 2013 Sep 20;341(6152):1345–6.
50. Park JH, Tanaka M, Nakano T, Licastro E, Nakamura Y, Li W, et al. O-GlcNAcylation is essential for therapeutic mitochondrial transplantation. *Commun Med*. 2023 Nov 25;3(1):169.
51. Sharpley MS, Marciniak C, Eckel-Mahan K, McManus M, Crimi M, Waymire K, et al. Heteroplasmy of Mouse mtDNA Is Genetically Unstable and Results in Altered Behavior and Cognition. *Cell*. 2012 Oct;151(2):333–43.

